

HPLC 测定阿娜尔妇洁液中苦参碱的含量

史银基^{1*}, 刘砥威¹, 石雪², 漆也², 甄世瑜², 顾政一¹

- (1. 新疆维吾尔自治区药物研究所, 乌鲁木齐 830004;
2. 新疆西部加斯特药业有限公司, 乌鲁木齐 830032)

[摘要] 目的:以阿娜尔妇洁液为研究对象,建立阿娜尔妇洁液中苦参碱的含量测定方法。方法:采用 RP-HPLC 法,色谱柱 Kromasil (4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相甲醇-0.04% 三乙胺溶液(61:39),流速 0.7 mL·min⁻¹,检测波长 220 nm,柱温 25 °C,进样量 10 μL。结果:供试品中苦参碱在 19.12 ~ 153.0 mg·L⁻¹呈良好线性关系($r = 0.9998$);平均回收率为 95.17%,RSD 1.11% ($n = 9$);供试品溶液在 12 h 内稳定。结论:本方法操作简便、可靠,灵敏度高、结果准确、重复性好,可用于阿娜尔妇洁液的质量控制,同时完善并提高了原有的药品质量标准。

[关键词] 阿娜尔妇洁液; 苦参碱; 反相高效液相色谱法; 含量测定

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)14-0119-03

Content Determination of Matrine in A'naer Vigills by RP-HPLC

SHI Yin-ji^{1*}, LIU Di-wei¹, SHI Xue², QI Ye¹, ZHEN Shi-yu², GU Zheng-yi¹

- (1. Xinjiang Institute of Materia Medica, Urumqi 830004, China;
2. Xinjiang West Just Medicine Co., Ltd., Urumqi 830032, China;)

[Abstract] **Objective:** To develop an RP-HPLC method for the determination of matrine content in A'naer vigills. **Method:** By RP-HPLC, Kromasil (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) column was used with mobile phase consisted of methanol-0.04% triethylamine (61:39) and flow rate set at 0.7 mL·min⁻¹. The detection wavelength was set at 220 nm and column temperature was set at 25 °C. The injection volume was 10 μL. **Result:** The linear response range of matrine was 19.12-153.0 mg·L⁻¹ ($r = 0.9998$). The average recovery was 95.17%, RSD was 1.11% ($n = 9$). The product in the 12 h solution in stability. **Conclusion:** The method is simple, reliable, sensitive, accurate and reproducible for quality control of A'naer vigills.

[Key words] A'naer vigill; matrine; HPLC; content determination

阿娜尔妇洁液是由石榴皮、蛇床子、苦豆子等 7 味维吾尔药材,依据维吾尔医理论对维吾尔民间古方研制开发而成的复方制剂。具有清热燥湿、止痒之功效,尤其对细菌性、霉菌性、滴虫性妇科疾患疗效确切。处方中苦豆子主要含有苦参碱、氧化苦参碱和槐胺碱,其对大肠杆菌、变形杆菌、痢疾杆菌、结核杆菌、葡萄球菌及淋球菌等细菌有明显的抑制作用。原标准中采用紫外分光光度法测定方中槐定碱的含量。为了更好地控制本品的质量,笔者参考有关文献^[1-9],在现行质量标准的基础上研究制定了

反相高效液相色谱法(RP-HPLC)测定制剂中苦参碱的含量,以更全面地控制该制剂的质量。

1 仪器与试剂

日本岛津 SPD-10AVP 型高效液相色谱仪,BS110S 型电子天平(德国 Sartorius),SZ-93 型自动双重纯水蒸馏器,KQ-100DE 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

苦参碱对照品(中国药品生物制品检定所,批号 110805-200508)。甲醇(美国 Fisher 公司,色谱纯),实验用水为重蒸水,其余试剂均为分析纯。阿娜尔妇洁液(批号 20100518)及阴性样品由新疆西部加斯特药业有限公司提供。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Kromasil 色谱柱(4.6 mm × 250

[收稿日期] 20111008(013)

[通讯作者] *史银基, Tel: 0991-2322193, E-mail: 57920863@qq.com

mm, 5 μm), 流动相甲醇-0.04% 三乙胺溶液 (61:39), 流速 0.7 mL \cdot min⁻¹, 检测波长 220 nm, 柱温 25 $^{\circ}\text{C}$ 。苦参碱的理论塔板数应 > 7 000, 分离度应 > 1.5。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品贮备液 精密称取苦参碱对照品 15.3 mg, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 制成每 1 mL 含苦参碱 1.53 mg 的溶液。精密量取 5.0 mL, 置 50 mL 量瓶中, 加入甲醇至刻度, 摇匀, 制备成每 1 mL 含苦参碱 0.153 mg 的溶液, 即得。

2.2.2 供试品溶液 精密量取本品 10 mL, 置分液漏斗中, 加氨试液 3 mL, 混匀, 用三氯甲烷提取 4 次 (15, 15, 10, 10 mL), 合并三氯甲烷层, 加 5 g 无水硫酸钠, 滤过, 移至 50 mL 量瓶中, 用三氯甲烷稀释至刻度, 摇匀。精密量取滤液 10 mL, 通过中性氧化铝柱 (100 ~ 200 目, 10 g, 内径 2 cm), 依次以三氯甲烷、三氯甲烷-甲醇 (7:3) 各 40 mL 洗脱, 收集洗脱液, 蒸干, 残渣加甲醇适量使溶解, 转移至 5 mL 量瓶中, 并稀释至刻度, 摇匀, 静置, 取上清液用微孔滤膜 (0.45 μm) 滤过, 取续滤液, 即得。

2.2.3 阴性对照溶液 按照处方比例称取缺苦豆子的其他药材, 按生产工艺制成阴性样品, 精密量取阴性样品液 10 mL, 置分液漏斗中, 按 2.2.2 项下方法制备阴性对照溶液, 备用。

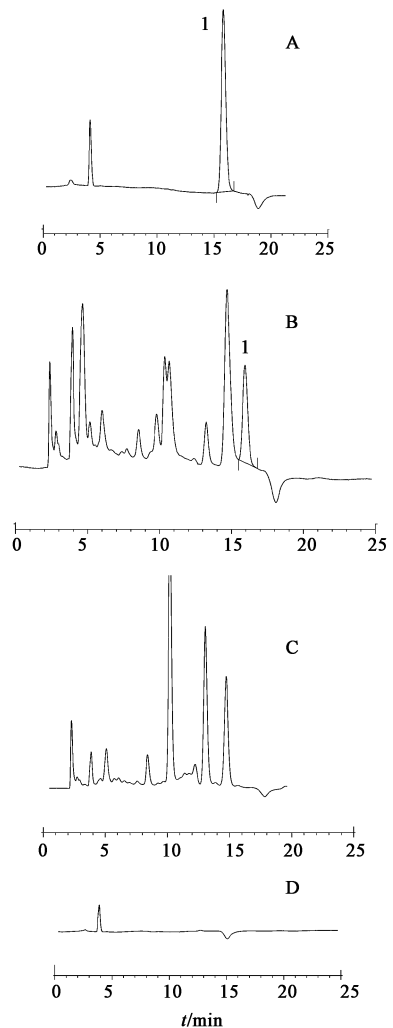
2.3 线性关系考察 精密吸取上述对照品贮备液 (0.153 g \cdot L⁻¹) 1.25, 2.5, 5.0, 7.5, 10.0 mL 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 使制成含苦参碱为 19.12, 38.25, 76.50, 114.75, 153.00 mg \cdot L⁻¹ 的对照品溶液。从中分别精密吸取 10 μL , 注入液相色谱仪, 记录峰面积。以进样质量浓度 (mg \cdot L⁻¹) 为横坐标, 峰面积为纵坐标进行回归, 得标准曲线方程为 $A = 13\ 616C + 33\ 469$ ($r = 0.999\ 8$), 在 19.12 ~ 153.0 mg \cdot L⁻¹ 苦参碱峰面积与进样质量浓度具有良好的线性关系。

2.4 精密度试验 取同一批样品 (批号 20100518) 制得供试品溶液, 按照上述色谱条件连续重复进样 6 次, 记录峰面积。结果苦参碱峰面积的 RSD 0.65%, 表明仪器精密度良好。

2.5 稳定性试验 取同一批样品 (批号 20100518), 室温下贮藏, 按照上述色谱条件分别于 0, 2, 4, 6, 8, 10 h 进样测定。结果苦参碱峰面积的 RSD 1.47%, 表明供试品溶液在 10 h 内稳定性良好。

2.6 重复性试验 取同一批样品 (批号 20100518), 按上述 2.2.2 项下方法分别制成 6 份供试品溶液, 按照上述色谱条件进样测定, 结果 6 份样品测得苦参碱峰面积的 RSD 1.68%。表明本法的重复性良好。

2.7 专属性 精密量取阴性对照溶液 10 mL, 按 2.1 项下色谱条件进样。结果供试品中苦参碱与相邻成分分离度良好; 阴性对照溶液在与苦参碱对应位置上未见相同色谱峰, 表明阴性对照无干扰。苦参碱对照品溶液、供试品溶液、阴性样品溶液、甲醇溶液的 HPLC 图, 见图 1。



A. 对照品; B. 供试品; C, D. 阴性样品; 1. 苦参碱

图 1 阿娜尔妇洁液高效液相色谱

2.8 加样回收率试验 采用标准添加法测定回收率。取已知含量的样品液 (批号 20100518) 10 份, 每份 5 mL, 精密量取, 分别置分液漏斗中, 第一份作为空白回收, 其余分 3 组, 每组 3 份, 每组分别加入质量浓度为 1.54 g \cdot L⁻¹ 的苦参碱对照品溶液 2.0,

2.5,3.0 mL,按上述 2.2.2 项下方法分别制成供试品溶液,按照上述色谱条件进样,测定苦参碱的含量,用外标法计算回收率。结果见表 2。

表 2 苦参碱加样回收试验

No.	对照品量 /mg	测定量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	平均回 收率/%	RSD /%
1	3.08	6.635 4	93.56	94.28		
2	3.08	6.681 4	95.06			
3	3.08	6.655 5	94.21			
4	3.85	7.518 4	97.78	96.33		
5	3.85	7.521 8	97.87		95.17	1.11
6	3.85	7.347 1	93.34			
7	4.62	8.095 5	93.98	94.90		
8	4.62	8.165 3	95.49			
9	4.62	8.153 9	95.24			

2.9 样品含量测定 按正文拟定的含量测定方法对 10 批供试品的苦参碱含量进行了测定,用外标法计算含量。结果苦参碱的含量分别为 0.726, 0.810, 0.774, 0.732, 0.787, 0.710, 0.715, 0.795, 0.740, 0.786 g·L⁻¹。

3 讨论

尝试了《中国药典》^[10]中的测定方法,结果分离度差,因此参考相关文献改变流动相。分别以甲醇-水、甲醇-冰醋酸、乙腈-水、甲醇-0.4% 磷酸等作为流动相进行了实验,结果表明当流动相比例为甲醇-0.04% 三乙胺溶液(61:39)时,主峰出峰时间较为适中,主峰与其他峰的分度度、主峰的理论板数、对称性等色谱参数均符合要求。

预试验表明,流速 1.00 mL·min⁻¹时,柱压较高,系统易出现堵塞,经试验调整后,将流速逐渐降低至 0.7 mL·min⁻¹时,系统柱压较稳定,系统条件均符合药典要求。故选择 0.7 mL·min⁻¹作为流速。

比较了 CLC-ODS (4.6 mm × 150 mm, 5 μm),

Kromasil (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 2 种色谱柱,发现在上述色谱条件下,后者比前者的基线分离、稳定性、峰的对称性方面均要好,故选择后者为试验用色谱柱。

从色谱图中可以看出苦参碱的测定不受其他组分干扰,该方法具有专属性强,重复性好,准确度高等特点,可用于阿娜尔妇洁液的质量控制,同时完善并提高了原有的药品质量标准。

[参考文献]

- [1] 杨家新,喻志芳. 苦豆子的研究进展[J]. 天津药学, 1998,10(1):43.
- [2] 任洁,刘光斌,邹干朋,等. HPLC 测定舒阴洗液中苦参碱的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(18):76.
- [3] 朱立范,刘力,参柏胶囊的定性定量方法研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(4):70.
- [4] 王小龙,叶晓娅. 不同提取工艺对制霉菌剂中苦参碱与氧化苦参碱含量的影响[J]. 医药导报, 2009, 28(5):645.
- [5] 徐宏峰,黄超,陈科力,等. 高效液相色谱法测定青柏洁身洗液苦参碱含量[J]. 医药导报, 2009, 28(11):1501.
- [6] 刘丽敏,刘华钢,毛俐,等. 苦参碱和氧化苦参碱体外对肿瘤细胞增殖的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2008,14(11):35.
- [7] 宗莉,李康乐,马耀忠,等. 克泻灵片中苦参类生物碱的 HPLC 分析[J]. 中国现代应用药学杂志, 1998, 15(6):38.
- [8] 刘晓华,孙文基,李涛. HPLC 法测定独活中苦参碱含量[J]. 药物分析杂志, 2004, 24(2):212.
- [9] 汪文来,白卫国,于智敏,等. 清宫消炎栓剂成型工艺优选[J]. 中国实验方剂学杂志, 2008, 14(11):18.
- [10] 中国药典. 一部[S]. 2010:188.

[责任编辑 顾雪竹]